

Synthesis and ESR Studies of ^{13}C -Labeled Models of Kedarcidin Chromophore

著者	三田 隆
号	46
学位授与番号	2012
URL	http://hdl.handle.net/10097/39039

氏 名・(本籍)	み た たかし 三 田 隆
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2 0 1 2 号
学位授与年月日	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科, 専 攻	東北大学大学院理学研究科 (博士課程) 化学専攻
学 位 論 文 題 目	Synthesis and ESR Studies of ^{13}C -Labeled Models of Kedarcidin Chromophore (^{13}C 標識したケダルシジクロモフォアモデルの合成とESR研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 平 間 正 博 教 授 吉 良 満 夫, 宮 仕 勉 助教授 秋 山 公 男

論 文 目 次

Chapter 1	Introduction
Chapter 2	Synthesis of ^{13}C -Labeled Models of Kedarcidin Chromophore
Chapter 3	ESR Measurement of Unlabeled and ^{13}C -Labeled Models of Kedarcidin Chromophore
Chapter 4	Application of Spin-Trapping Method for Unlabeled and ^{13}C -Labeled Models of Kedarcidin Chromophore
Chapter 5	Photo- and Thermochemistry of Cyclodec-3-ene-1,5-diyne
Chapter 6	Conclusion

論 文 内 容 要 旨

第1章 序論

ケダルシジクロモフォアは、抗腫瘍抗生物質ケダルシジンの活性本体である。その抗腫瘍活性発現機構は、次のように考えられている。クロモフォアの高度に歪んだ9員環エポキシエンジイン部が常温で正宗-バーグマン反応を起こし、パラベンザインビラジカル中間体を発生する。この中間体のDNAからの水素引き抜き反応により、DNAが切断され、活性を示す。当研究室の飯田はこのクロモフォアのモデルである **1** を合成し、その減衰速度を測定した。その結果、**1** の減衰速度は、溶媒に大きく依存することおよび同位体効果を示すことが明らかになった。このことから **1** では、パラベンザインビラジカル中間体 **4** から **7** への水素引き抜き反応が律速段階であることがわかった (Scheme 1)。そして、水素引き抜きの遅い溶媒中では **4** から **1** への逆反応が十分な速度で進行し、**4** の濃度は低いながらも **1** と **4** が平衡状態にあると仮定した。それならば、**4** のESR信号が観測できる可能性がある。実際、飯田は **1** の溶液のESR測定により、系中に何らかの常磁性種が存在していることを明らかにした。この常磁性を解明する試みを第2章から第4章に記述した (東北大学多元物質科学研究所秋山助教授との共同研究)。

第5章では、シクロデカ-3-エン-1,5-ジイン **8** の光反応を利用して中間体の1,4-ジデヒドロテトラリン **9** をIRで観測する試みについて記述した (Ruhr大学Sander教授との共同研究)。本博士論文は以上2つの主題で構成されている。

第2章 ^{13}C 標識したケダルシジクロモフォアモデルの合成

これまでの研究から前述のESR信号について次のことがわかっていた。この信号はジクロロメタン中と重ジクロロメタン中で形が変わらない。また、温度に比例して信号強度が増減する。前者は、この信号が溶媒由来ではなく基質由来の信号であることを示す。後者は、**1**と**4**の間の平衡を反映しているためと考えられる。これらの理由から、この信号は**4**の信号であると推測されたが、厳密な帰属はできていなかった。そこで、本研究では、 ^{13}C 同位体標識したモデル **2, 3** を合成し、そのESR測定を行うことにした。パラベンザインビラジカル**4**の信号を観測しているのであれば、**2, 3**の場合パラベンザインビラジカル **5, 6** を観測することになる。この場合不対電子が標識炭素上に存在するので、 ^{13}C の持つ核スピンと不対電子が相互作用し、ESR信号が変形すると考えられる。それにより、パラベンザインビラジカル**4**の信号であるか否かを判別できる (Scheme 1)。

標識体の合成では、原料が限られるため非標識体と異なる合成経路の構築が必要である。種々検討の結果、安価な ^{13}C 源から目的物への合成経路を確立した。すなわち、3位標識体 **2** は ^{13}C -ヨードメタンから19段階、全収率3%で合成し、6位標識体 **3** は、1- ^{13}C -酢酸エチルから13段階、全収率4%で合成した。

第3章 非標識モデルと標識モデルのESR測定

各モデルのESRスペクトルを測定した。標識体 **2, 3** は非標識体 **1** と比較して約1.2 mTの大きさと超微細分裂した信号を示した。この ^{13}C による超微細分裂の値は、信号がパラベンザインビラジカルのものであると想定したときの値よりかなり小さい。このことから不対電子が標識位置に局在化していないことがわかった。また、3位標識体 **2** と6位標識体 **3** で、線形がほぼ同じだったことからESR信号を示す常磁性種の不対電子は3位からも6位からも離れた場所にあることが示唆された。さらに**1**の溶液の2次元ニュートレーション法によるESR測定の結果、三重項種すなわちスピン多重度Sが1の常磁性種による吸収の寄与はないことが明らかになった。これは、パラベンザインビラジカル **4** の寄与はないことを示す。

以上の結果から**1**の溶液のESR信号は**4**自身の信号ではなく、また**4**の吸収が信号中に含まれていることもないということが明確になった。以上の結果から系中に存在する常磁性種を推測した。**1**から発生した**4**はこの条件では観測できない。**4**の水素引き抜き反応と分子内水素転位反応によりベンジルラジカル**12, 13**が生成する。ここで、標識位置から離れているということを考慮すると、観測されているのはベンジルラジカル**13**がさらに転位を起こしたアリルラジカル**14**であると推測した (Scheme 3)。温度によって信号強度が変化するのは、**14**の存在量がパラベンザインビラジカル **4** の存在量に比例するためだと考えられる。

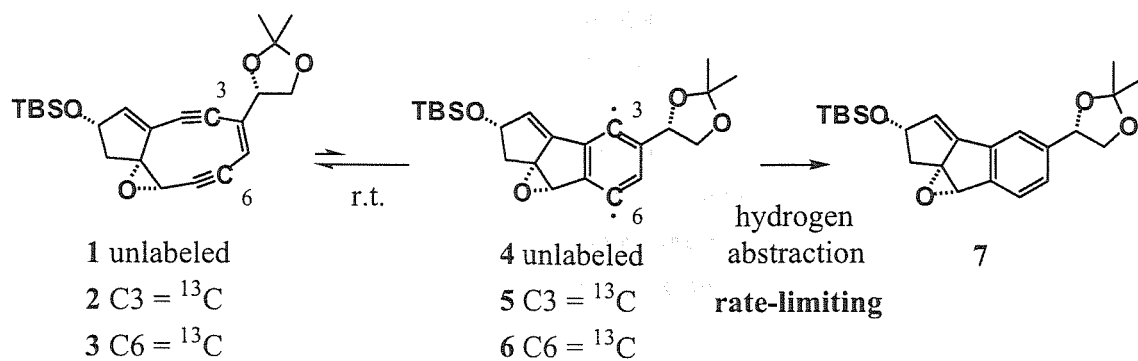
第4章 スピントラップ法の適用

系中の常磁性種についてさらに情報を得るため、スピントラップ実験を行った。スピントラップ剤としてMNPを用いたところ、非標識体 **1** の溶液では1.39 mTの超微細結合定数を持つ3重線が観測された。これは、生成したMNP付加体のニトロキシドラジカルの吸収であり、報告されている超微細結合定数の値と比較しアリールラジカルの付加体が観測されていると帰属した。続いて3位標識体 **2** のスピントラップ実験を行ったところ9本のピークが観測された。これは、1.39 mTの大きさと分裂した3重線と1.39 mTの大きさと3重線に分裂した信号がさらに0.68 mTで2重線に分裂した6本のピークの重ね合わせであると帰属

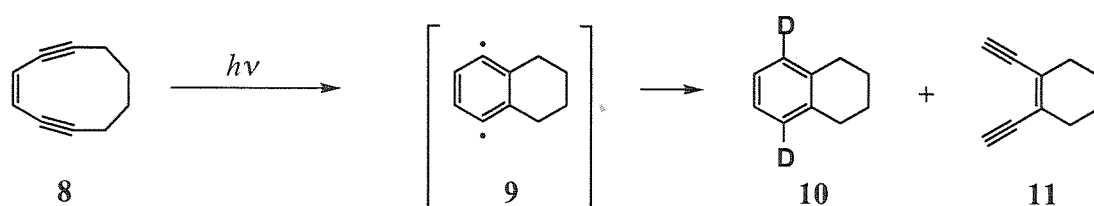
できた。0.68 mTの分裂は、 ^{13}C 核の寄与によると考えた。6位標識体3の実験でも同様に帰属できる9本のピークが観測された。このときの ^{13}C 核による超微細分裂の大きさは0.73 mTであった。このことから観測されているのはMNPの3位付加体**15**と16位付加体16の混合物 (Figure 1) で、標識した炭素がMNPに付加すると ^{13}C 核による超微細構造がスペクトルに表れると考えることができる。従って、パラベンザインピラジカルが捕捉されていることがはっきりした。ピークの面積比から3位付加体が6位付加体より優先して生成しており、その比は2対1であった。一方、スピントラップ剤として、DMPOを用いたところESR吸収は、時間変化を示した。この時間変化がいかなる理由によるものか明確ではないが、最終的に非標識体と6位標識体は、窒素と β 位水素による超微細分裂による6本のピークを示した。その超微細結合定数はそれぞれ1.53 mTと2.51 mTであった。3位標識体の場合は、その信号が、さらに0.45 mTの大きさで2重線に分裂した信号を与えた。この分裂は、 ^{13}C によるものと考えられる。窒素と水素による超微細結合定数が報告されているフェニルラジカルのDMPO付加体の値と一致しないものの、3位標識体で ^{13}C 核による分裂が観測されることから、これらの信号は、パラベンザインピラジカルの3位が付加した化合物の信号であると考えた。この反応溶液のMALDI-TOF-MSスペクトルは、この1対1付加体だけでなく、ピラジカルが2分子のDMPOに付加したビスアダクトに対応するピークを示した。このことからビスニトロキシドラジカル**17** (Figure2) の生成を考えたが、室温でのESR測定で、この常磁性種に対応する信号を帰属することはできなかった。このような場合、不対電子間の距離が近く大きな双極子間相互作用があるため、緩和時間が極めて短くなることにより線形が著しく広幅化して信号が観測されていない可能性があった。そこで、分子運動を抑え緩和時間を長くする目的で、液体窒素温度での測定を行った。77 Kの重ジクロロメタンマトリクス中でESRを測定した結果、三重項種特有の線形を持つ信号が観測された。この信号は点双極子近似で、不対電子間距離が0.82, 0.93 nmの2種類の三重項種が存在しているとするときよく再現できた。今のところ、この三重項種は、パラベンザインピラジカルのDMPOビスアダクトによると考えている。2種類あることは、付加反応によって生じる可能性のある4種のジアステレオマーのうちの2種類が観測されていると考えられる。MM2計算で4種のジアステレオマーのニトロキシドラジカルの酸素原子間距離をそれぞれ計算した。しかし、いずれのジアステレオマーも求めた距離は約0.8 nmでESRから求めた値と一致しなかった。不対電子を考慮したより厳密な計算法の適用が必要である。

第5章 シクロデカ-3-エン-1,5-ジインの光および熱反応

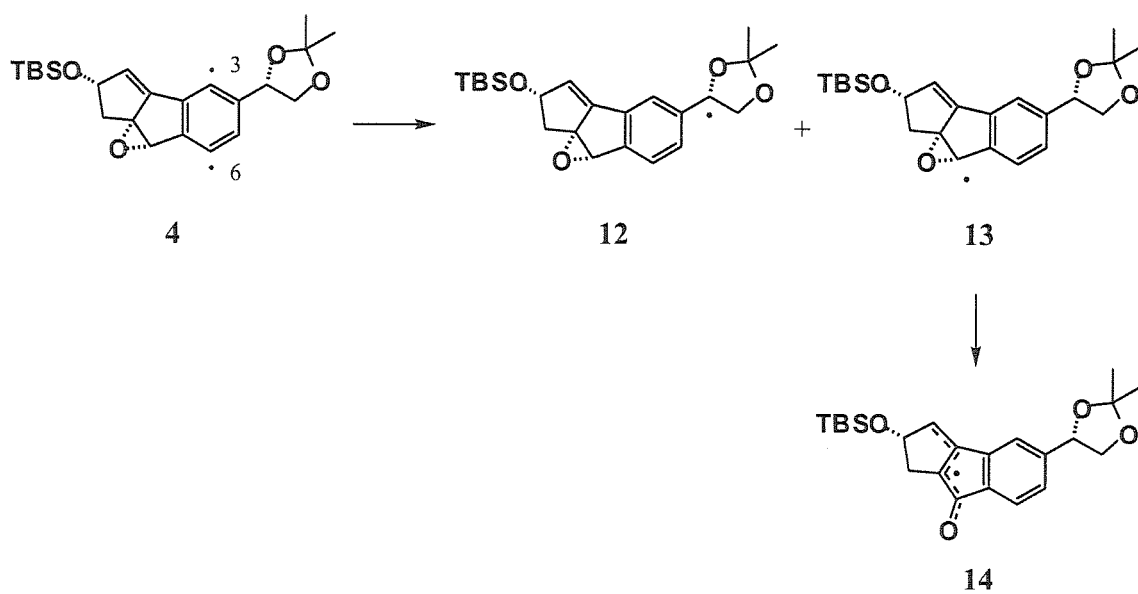
当研究室の金子は、シクロデカ-3-エン-1,5-ジイン **8** に光を照射すると、テトラリン**10**とエンジイン**11**が効率良く生成することを見いだした (Scheme 2)。この反応の中間体である1,4-ジデヒドロテトラリン**9**を、アルゴンマトリクス中で単離しIRで測定することを試みた。アルゴンマトリクス中7.5 Kで、280-400 nm種々の波長のレーザーを用い、閃光分解法を**8**に対して適用した。しかし、生成物のIRスペクトルには**9**の吸収はなく、**11**の吸収のみ観測された。また、**8**に瞬間熱分解法を適用しても同様に**11**の吸収のみ観測された。以上の結果は中間体**9**の**11**への逆バグマン反応は、7.5 Kでも極めて速いことを示唆する。



Scheme 1



Scheme 2



Scheme 3

Figure 1

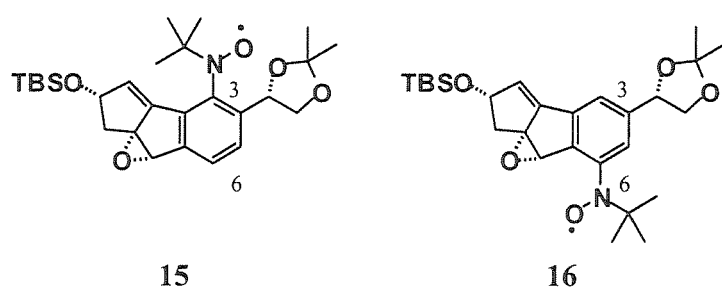
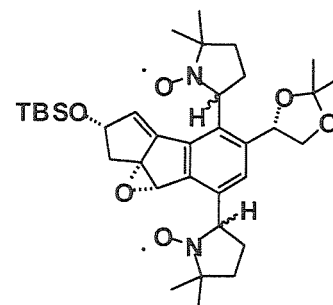


Figure 2



論文審査の結果の要旨

三田 隆の論文は、ケダルシジクロモフォアモデル化合物のESR研究に関する六章から構成されている。エンジン系抗腫瘍性抗生物質ケダルシジンのクロモフォアは、高歪みエポキシビシクロ[7.3.0]ウンデカドデカジエン構造を有する。クロモフォアのモデル化合物が、天然のクロモフォアと同様に正宗バーグマン芳香環化反応を起こす。すなわち、パラベンザイン型ビラジカルを経由して水素を引き抜き、ベンゼン系化合物に変化する。そして、室温でパラベンザイン形と平衡にあると推定され、ESRスペクトルを測定するとシグナルが観測された。しかし、ラジカル種の同定は厳密に行われていなかった。著者は、 ^{13}C 標識したモデル化合物を合成して観測されるESRスペクトルを解析し、パラベンザインビラジカルは観測されていないことを証明した。

第一章では、ケダルシジクロモフォアの構造と化学反応性、生物活性、その分子機構を概説し、合成クロモフォアモデル分子の化学的性質およびESR挙動について解説した。そして、常磁性種を同定するためには、 ^{13}C 標識したモデル化合物を合成してESRの超微細分裂を解析する必要があることを明らかにした。

第二章では、3位と6位を ^{13}C 標識したモデル化合物の合成法を開発した。

第三章では、 ^{13}C 標識したモデル化合物のESRスペクトルが、非標識体のスペクトルより1.2 mT しか広幅化しておらず、不対電子が標識位置に局在化していないことを明らかにした。

第四章では、スピントラップ法を用いて、パラベンザインビラジカル中間体を直接捕捉したビスアダクト三重項種を低温で観測することに成功し、パラベンザインとの平衡を始めて直接証明した。

第五章では、シクロデカ-3-エン-1,5-ジインのレーザー閃光分解および熱反応を検討し、7.5 Kの極低温でも中間体パラベンザインビラジカルからの逆バーグマン反応が容易に起こることを明らかにした。

第六章では、著者の研究成果を総括した。

以上、本研究は、有機合成化学を駆使して物理有機化学の問題を解明した画期的な研究であり、著者が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。従って、三田隆提出の論文は、博士（理学）の学位論文として合格と認める。